《基于 BCOP 和 CAMVA 的眼刺激性的整合测试评估方法（征求意见稿）》编制说明

《基于 BCOP 和 CAMVA 的眼刺激性的整合测试评估方法》标准编制组

二〇二一年九月

项目名称：基于 BCOP 和 CAMVA 的眼刺激性的整合测试评估方法

项目统一编号：SHSOT-2020-B11

承担单位：广州市华代生物有限公司、上海交通大学医学院、上海市疾病预防控制中心、雅诗兰黛亚太研发中心、无限极（中国）有限公司、拉芳家化股份有限公司、广东三好科技有限公司、上海博理生物科技有限公司，等。

编制组主要成员：陈志杰，等。

本文件首批执行单位：广州市华代生物有限公司、上海市疾病预防控制中心、上海化工研究院、拉芳家化股份有限公司、广东三好科技有限公司、等。

《基于BCOP和CAMVA的眼刺激性的整合测试评估方法（征求意见稿）》编制说明

目录

一、工作情况.....4
1、项目背景.....4
2、任务来源.....4
3、主要工作过程.....4
二、标准编制原则和制标依据.....5
1、解决毒性测试替代方法组合的问题.....5
2、提高化学品毒性预测的准确性.....6
3、确定标准主要内容的依据.....6
三、标准结构.....7
单击或点击此处输入文字。.....7
1、范围.....
2、规范性引用文件
3、术语和定义.....7
4、符号和缩略语.....7
5、原理.....7
6.测试策略与评估过程.....7
6.1 范围和策略.....8
6.2 CAMVA 方法.....10
6.3 角膜混浊度和渗透性(BCOP)测试.....10
6.4 方法性能和可接受标准.....10
7.数据和报告.....10
7.1 数据.....10
7.2 实验报告内容.....10
四、方法验证方案.....11
1、方法实验室内验证情况.....11
2、简化验证情况.....12
3、参考物质选择.....13
4、验证结果分析.....13
五、预期经济效果.....14
1、推动化妆品行业替代方法的实施.....14
2、推动组合替代方法的实施.....14
六、采标程度，国内外同类标准水平对比情况.....15
七、重大分歧意见的自理和其他需要说明的事项.....16

一、工作情况

1、项目背景

随着日用化学工业的发展和消费市场规模的扩大，消费者眼睛暴露于大量日化工业产品中，如化妆品、洗护用品、家居用品等，也可能有意或无意中暴露于农药、空气清新剂和消毒产品等。造成眼睛的不同程度的刺激性。法规对于眼睛接触产品的安全性作出了严格的规定。传统的测试方法使用实验动物，由于涉及动物福利，加上成本高、难定量和动物结果外推到人的不确定性。使得开发非动物的替代方法成为法规和测试的需求。目前用于化学品的眼腐蚀性和刺激性的方法非常多，主要有细胞法：短期暴露法、荧光素漏出法；器官型方法：离体鸡眼球法、离体牛角膜法、鸡胚尿囊膜方法；重建器官法：重建角膜法；大分子反应法：蛋白变性快检方法。目前动物试验替代方法的研发和转化应用面临解决四个重要问题：一是单一方法的局限性，通过建立整合测试策略（IATA）来解决；二是复杂毒理学终点替代方法开发的问题，通过建立以有害结局通路(AOP)为主要指导原则的方法开发思路；三是标准化方法转化应用中的质量控制和优化的问题，通过建立实施指南进行规范。四是新技术和方法的验证问题，通过建立针对性验证指南和实施解决。本标准针对第一个问题，以化学品/化妆品眼刺激性的替代方法组合测试为目标，建立毒性预测的整合方案。

2、任务来源

2020年12月，上海市毒理学会标委会审议通过了第二批团体标准立项申请，“基于BCOP和CAMVA的眼刺激性的整合测试评估方法”通过立项，立项编号：SHSOT-2020-B11。标准完成后将成为国内第一个基于IATA策略的眼刺激的试验方法标准，为化学品和化工产品的安全性建立快速、高效和准确的检测依据。标准参与单位有广州市华代生物有限公司，上海化工研究院，上海交通大学医学院，上海市疾病预防控制中心，雅诗兰黛亚太研发中心、无限极（中国）有限公司，拉芳家化股份有限公司，广东三好科技有限公司，上海博理生物科技有限公司，等。

我国化学品毒性测试非动物方法的标准化只有不到20年的时间，最早于2006年开始由出入境检验检疫机构编制和发布了我国第一批化妆品和化学品替代方法行业标准。除了在进出口商品检验检测中使用外，还在化妆品行业推广。2016年《化妆品安全技术规范》接受了3T3中性红摄取光毒性试验方法。之后，皮肤刺激的大鼠经皮电阻试验、皮肤致敏的直接多肽结合试验、眼刺激的短期暴露试验等多个方法被接受。

3、主要工作过程

1）成立标准编制组

2020年8月，成立了由广州华代生物陈志杰任组长，上海市疾病预防控制中心、上海化工研究院，上海交通大学医学院，上海市疾病预防控制中心，雅诗兰黛亚太研发中心、无限极（中国）有限公司，拉芳家化股份有限公司，广东三好科技有限公司，上海博理生物科技有限公司等代表参与的标准编制小组。制订项目实施计划，启动标准验证研究。

2）相关标准资料研究

查询国际标准文件，以OECD化学品健康毒理学相关的准则和导则文件为主，以ICCVAM、EURL-ECVAM、UN GHS等文件。分析范围包括IATA、GIVIMP、TG系列、DG系列、AOP系列、工作报告等。国内标准以GB、SN等为主。如OECD TG437、SN/T4153、EURL- ECVAMDB-ALM、OECD No 263。

3）召开研讨会，制订方法验证程序

2020年8月27日，起草小组在上海化工院召开了标准起草启动会，邀请行业内专家召开专题讨论会，就标准编制的重点、难点和关键问题进行充分研讨，确定验证方案，确定参与验证单位为广州华代、广东三好、上化院等3家实验室。2020年9月份开展标准的验证工作，通过线上和线下会议研讨和讨论等多种方式对标准验证的各个环节，包括样品采购、制盲、分装、分发，方法SOP确认、培训、实验室现场考察、数据统计等具体工作。2021年7月17日召开的2021年度标准启动会上，汇报了标准起草和的验证情况。9月17日编制组召开了标准预审会议，讨论标准文本草案和编制说明。

4）组织方法验证工作

（1）2020.11-2021.4年，选择3种眼刺激物和3种非刺激物在三家实验室完成全部验证。

（2）2021.4-2021.7，完成验证数据的统计分析。

二、标准编制原则和制标依据

1、解决毒性测试替代方法组合的问题

随着全球化学品使用量的广泛大量的增加，不同国家均立法要求严格监管化学品的安全使用和运输，以保护人类和环境健康。大多数国家要求按照联合国发布的全球化学品统一分类和标签制度（Globally Harmonized System of classification and labeling of chemicals, GHS)对化学品和产品进行标识。GHS是一项统一的化学品危害分类制度，包括潜在的眼腐蚀或刺激性。为了减少对动物的使用并最大限度地利用现有数据，经济合作与发展组织(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD经合组织)于2014年制定了一份关于眼刺激性的整合测试评估方法的指导文件(OECD 263)。该方法也被欧洲化学品管理局(European Chemicals Agency, ECHA)和GHS提议采用。

该指南提供了关于如何整合所有现有的和新产生的关于化学品眼严重刺激性和刺激性潜力的信息，以便进行分类和标签。指南包含的9个模块被确定为IATA眼危害识别的关键要素，9个模块可进一步分为三个部分:第一部分关于现有数据，包括人体、体内、体外、物理化学特性和非测试方法，第二部分关于对第一部分收集的可用数据进行证据权重分析，第三部分是关于生成新的测试数据。第三部分仅在第二部分WoE分析不确定时进行，新的测试将从由第二部分WoE分析得到的假设的体外方法开始。该假设能够表明获得最有可能的腐蚀性/刺激性的分类，以及后续采取自下而上的或者自上而下的预期测试顺序策略。当这种化学物质被假定为没有刺激性时，采用自下而上的策略(先进行眼刺激后进行非眼刺激性测

试)。另一方面，当该化学品被假定为具有严重眼刺激性时，执行自上而下的策略(先进行严重眼损伤测试后进行眼刺激性测试)。

2、提高化学品毒性预测的准确性

我国国家标准GB 30000定义了“28个化学品分类和标识的强制性安全标准”，每个标准对应于联合国GHS的一个危险类别。关于眼刺激性(类别2)和轻度刺激(类别3)是基于参照GB 30000.19的体内兔试验。尽管中国没有进行非动物试验的具体法律或法规，但从遵守“3R”原则(减少、优化和替换)的积极角度来看，中国积极参与替代研究工作的推广，并对化妆品安全评估中的替代方法持开放态度。2016年开始，化妆品化学成分的3T3中性红吸收(NRU)光毒性试验、大鼠经皮电阻(TER)试验已被纳入中国化妆品安全技术规范，标志着动物替代方法正式进入中国化妆品标准体系。此外，自2015年以来，中国一直以观察员身份参与替代测试方法国际合作（International Cooperation on Alternative Test Methods, ICATM)。近年来，各种研究机构和权威实验室做出了大量努力，使得替代方法在科学上和化妆品行业都取得了重大进步。眼刺激方面，行业广泛应用的方法是鸡胚法、牛角膜浑浊渗透性法（BCOP）、短期暴露法、蛋白变性快检法，而离体鸡眼球法（ICE）、荧光素漏出法（FL）比较少用。动物实验替代方法在行业广泛使用的情况，使得单一方法的组合成为目前行业转化应用的需求。建立基于IATA的组合策略，可以提高GHS制度下毒性的预测能力。

3、实践化妆品 IATA 测试策略

2016 年《化妆品安全技术规范》接受了 3T3 中性红摄取光毒性试验方法。之后，皮肤刺激的大鼠经皮电阻试验、皮肤致敏的直接多肽结合试验、眼刺激的短期暴露试验等多个方法被接受。但目前已发布的国家标准、行业标准和团体标准存在以下问题：

1）、缺少规划，没有形成整体评测系统，对每个毒性终点的评价方法缺少整体梳理；

2）、单一替代方法数量少且比较分散，替代方法只见树林，不见森林；

3）、替代方法普遍缺少应用场景及数据积累，缺少实际应用的规范性指导文件；

4）、行业数据还比较少，特殊样品的测试，如混合物、产品和特殊样品的公开数据；

5）、缺少组合方案，缺少 IATA 策略的尝试；

6）、替代方法的实验结果与风险评估脱节；

7）、对现有方法的优化缺少指南；

8）、对新技术的应用和新方法开发缺少指南；

4、确定标准主要内容的依据

目前，可使用的经过验证的用于化学品的严重眼损伤和刺激性的方法非常多，主要有细胞法：短期暴露法(SIRC)、荧光素漏出法(FL)；器官型方法：离体鸡眼球法(ICE)、离体牛角膜法(BCOP)、鸡胚尿囊膜方法(CAMVA/HETCAM)；重建器官法：重建角膜法；大分子反应法：蛋白变性快检方法。根据 OECD IATA 指南文件，构成 IATA 组成的方法应当是 DA 方法，即已

通过正式验证并被监管承认的方法。考虑到行业的现状，目前广泛应用的方法是鸡胚法、牛角膜浑浊渗透性法（BCOP）、短期暴露法、蛋白变性快检法，而离体鸡眼球法（ICE）、荧光素漏出法（FL）比较少用。因此，眼刺激 IATA 的整合测试评估只能从以上方法中选择。

三、标准结构

单击或点击此处输入文字。

1、 范围

规定了方法的适用范围，化学品的眼刺激性及严重损伤的风险评价，化学品进行更准确的分类识别，用于更准确评估化学品潜在的眼危害。化妆品、农药、消毒产品等可能的眼接触物品的眼腐蚀性或刺激性的测试。

2、规范性引用文件

3、术语和定义

列举了 9 个术语，如眼刺激性、测试和评估的整合方法、证据权重、定义性方法、角膜浑浊度、角膜渗透性、绒毛尿囊膜、体外刺激评分(IVIS)、基准对照。

4、 符号和缩略语

5、原理

5.1 整合测试策略原则

包括：5.1.1 IATA 概念，5.1.2 定义性方法和判定性方法，5.1.3 证据权重，5.1.4 IATA 组成来源，5.1.5 IATA 的适用性，

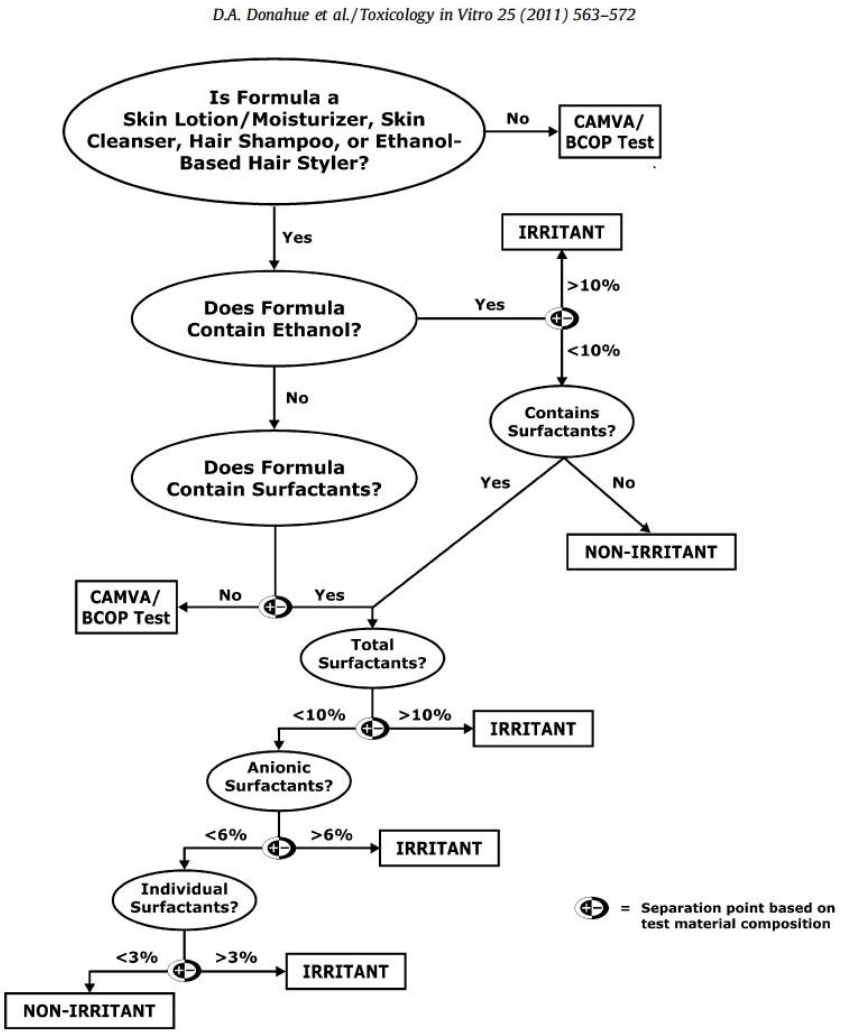
5.2 严重眼损伤和刺激性的 IATA 方案

眼刺激的 IATA 模块由三个部分 9 个模块组成。第一部分现有数据，可从文献和数据库以及其他可靠的来源获取有用信息，用于模块 1 到 6。模块 7 理化性质中主要考虑 pH 值。模块 8 中包含有非测试方法。如用于化学物的(Q)SAR、交叉参照、分类和专家系统以及用于混合物的过渡性原则和可加性理论。第二部分包括模块 9，WoE 分析，如果 WoE 分析对潜在皮肤刺激性和腐蚀性具有不确定性，那么需要进行第三部分新的测试，优先采用体外方法，动物实验建议作为最后选择。

6.测试策略与评估过程

6.1 范围和策略

基于器官型体外方法（CAMVA-BCOP）的眼刺激性预测的 IATA 方法主要用于模块 5-6，当现有资料的证据权重分析不足以得出确定性的分类和标识时，作为一种实验步骤最优、获得结果最可靠的组合方式，用于测试物质准确的证据权利分析。具体可采用自下而上策略（即先进行非刺激性或轻度刺激性测试，再进行严重刺激性测试）或自上而下策略（即先进行严重眼刺激性测试，再进行非刺激性测试）。



6.1.2 评估和测试决策树判定程序

在判断是否需要进行CAMVA或者BCOP测试前应按照上图决策树进行配方或者产品的测试筛选，具体步骤：

1）如果新配方是润肤露/保湿霜，皮肤清洁剂、洗发水或乙醇基头发造型剂组合物则继续步骤 2），如果公式不满足这些条件，它便需要进行 CAMVA/BCOP测试。

2）如果新配方中含有一定浓度的乙醇成分≥10%，可归类为眼刺激物。发用定型喷雾中乙醇成分≥55%应归类为中度眼刺激物。如果乙醇浓度<10% 且不存在表面活性剂，则配方可

归类为对眼睛无刺激性。然而，如果含有表面活性剂存在且配方中乙醇含量<10% 的，进行第 4）步和第 5）步评估。

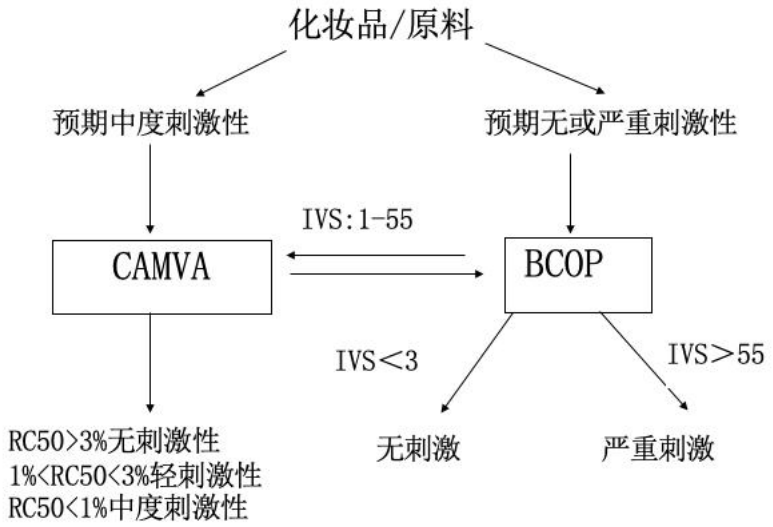
3）如果新配方不含表面活性剂或乙醇，它应该进行 CAMVA/BCOP 测试。如果表面活性剂存在于公式中，继续步骤 4）。

4）如果新配方含有总表面活性剂浓度≥10% 和/或含有的阴离子表面活性剂浓度≥6%，配方可归类为眼刺激性的。表面活性剂总量≥98% 的配方应被归类为中度眼刺激物。如果配方不满足这些条件，继续执行步骤 5）。

5）如果配方中含有总表面活性剂浓度<10% 和含有的阴离子表面活性剂浓度<6%，但含有至少一种单个表面活性剂的浓度≥3%，即可归类为眼刺激物。

不满足第 4）步或第 5）步条件的新制剂可归类为非眼刺激性产品或配方，前提是对所有成分进行保守的证据权重评估，表明没有新的或未充分表征的原料，否则需要进行 CAMVA/BCOP 测试。对于具有组合表面活性剂系统（例如阳离子-阴离子表面活性剂系统）的配方，全面的产品风险评估尤其重要，因为组合可能会改善或加剧单个表面活性剂的影响。在这些情况下，有关产品潜在眼刺激性的判断，都需要进行 CAMVA/BCOP 测试。

本标准最大的特点是实验前的预判，以及如何通过简单的组合，补充安全性评价中数据的不足，提高毒性预测的确定性。基于以上原则，本标准实际上是回答眼刺激性的严重程度分类问题。因此，可采取的策略是“自下而上策略”和“自上而下策略”。



6.1.3自上而下策略

当初步判断供试物为中度或严重刺激性时，执行自上而下的策略，可以先进行BCOP测试（见规范性附录B），当BCOP IVS分值>55时可直接评价为严重眼刺激性；当BCOP测试IVS分值为1-55时可考虑为存在眼刺激性，此时需要补充CAMVA测试进行刺激性的具体分类。根据CAMVA RC50进行最终刺激性的衡量，如果同时满足BCOP测试中1<IVS<3，且CAMVA RC50>3%时，可判断为无眼刺激性；如果同时满足BCOP测试中3<IVS<55，且CAMVA RC50>3%时，可判

断为轻度眼刺激性；CAMVA结果为1%<RC50<3%时，则需要判断为轻度眼刺激性；CAMVA结果为RC50<1%时，则需要判断为中度眼刺激性。

6.1..4自下而上的策略

当初步判断供试物为轻度或无眼刺激性时，执行自下而上的策略，先进行CAMVA测试（见规范性附录A），当CAMVA结果为1%<RC50<3%时，可直接评价为轻度刺激性。当CAMVA结果为RC50<1%时，则考虑为存在中度或严重眼刺激性，需要补充BCOP测试进行更具体的分类。当CAMVA结果为RC50>3%时，则考虑可能存在无刺激性或轻度刺激性的情况，但仍需补充BCOP进行最终判定。当满足CAMVA结果为RC50<1%时，同时BCOP结果为3<IVS<55，则判断供试品为中度眼刺激性。当满足CAMVA结果为RC50<1%时，同时BCOP结果为IVS>55，则判断供试品为严重眼刺激性。当满足CAMVA结果为RC50<1%时，同时BCOP结果为3<IVS<55，则判断供试品为轻度眼刺激性。当满足CAMVA结果为RC50<1%时，同时BCOP结果为IVS<3，则判断供试品为无眼刺激性。

6.2 CAMVA 方法

方法操作见规范性附录 A，注意事项包括：阳性对照使用 SDS。RC50 值的计算值需要供试品的多种浓度得到测试后，数学曲线拟合的模型（例如剂量反应曲线）可以通过增加的重复测试进行计算。相关参数处在可接受变化范围。

6.3 角膜浑浊度和渗透性(BCOP)测试

试验过程见规范性附录 B，注意事项包括正确的阳性对照，以无水乙醇作为阳性对照物（该物质既能够引起浊度值增加也能导致荧光素钠渗透增加），基准对照和浊度值测定。

6.4 方法性能和可接受标准

包括体外方法的一致性，如实验的重复性、可靠性、可接受性和结果的实用性，结果的再现性。可接受性标准为角膜浑浊渗透性测试（BCOP）使用的是无水乙醇作为阳性对照物（因为该物质既能够引起浊度值增加也能导致荧光素钠渗透增加），它的体外评分 IVS 值：（浊度值+15×荧光素钠渗透值）数据为 51.6±6.2，它的可接受范围即为 39.2-64.0（均数±2SD）

7.数据和报告

7.1 数据

7.2 实验报告内容

规范性附录 A　眼刺激性的 CAMVA 法

A.1 试验材料及准备

A1.1 鸡胚

A1.2 实验设备、试剂及实验耗材

A1.3 阳性对照
A1.4 阴性对照
A1.5 受试物及制备
A2 实验过程
A2.1 操作过程
A2.2 简化试验分组
A2.3 完全试验分组
A3 数据分析
A3.1 数据输入
A3.2 预测模型
A3.3 实验可接受标准
规范性附录 B 识别无刺激性和严重刺激性的牛角膜浑浊和渗透性试验
B1 实验材料和准备
B1.1 牛眼球的来源和要求
B1.2 牛眼球的收集及实验室运送
B1.3 牛眼球的选用标准及数量
B2 实验方法
B2.1 牛眼球的预处理
B2.2 角膜的选用标准
B2.3 测试物的预处理与角膜接触
B2.4 对照
B2.5 清洗
B2.6 育孵
B2.7 检测
B3 数据处理
B3.1 数据校正
B3.2 体外刺激评分（IVIS）：
B3.3 预测模型

四、方法验证方案

1、方法实验室内验证情况

本标准正文实验部分包括自下而上和自上而下两个整合测试策略，验证使用的化学品来源于一组 319 种化妆品配方，方法开发单位对 319 种化妆品配方进行了大规模的组合测试，这些配方包括护肤品及护发产品两大类，细分类别有乳液保湿霜、清洁剂、除臭剂、卸妆液、按摩油、面膜、身体喷雾、洗发水、发用调节剂、定型喷雾、定型凝胶/乳液、造型摩丝、发用抛光产品、发蜡。319 种的产品代表性及测试结果如下

Table 4
Summary of ocular irritation by product category (319 formulas tested during 1996–2009).

	CAMVA RC_{50} scores (%)					BCOP In Vitro Irritancy Scores					Overall irritancy assessment		
	Mean	SD	Min	Max	No.	Mean	SD	Min	Max	No.	Total no. tested	No. irritants	No. non-irritants
Skin care products													
Lotions/moisturizers	84.3	26.35	16.0	130.0	50	1.4	1.31	−1.1	7.1	75	75	6	69
Cleansers	9.2	22.98	0.1	100.0	27	8.1	12.45	−1.0	48.8	41	41	36	5
Deodorants	87.8	14.97	62.0	100.0	8	2.1	3.56	−0.4	11.9	10	10	1	9
Make-up remover	4.8	NA	NA	NA	1	0.4	0.85	−0.2	1.0	2	2	1[a]	1
Massage oil	100.0	0.00	100.0	100.0	2	0.6	0.12	0.5	0.6	2	2	0	2
Facial mask	15.5	NA	NA	NA	1	4.9	2.53	3.1	6.7	2	2	2	0
Body spray	12.0	NA	NA	NA	1	32.5	NA	NA	NA	1	1	1	0
Total no.					90					133	133	47	86
Hair care products													
Shampoos	0.9	2.35	0.0	16.0	45	8.0	9.70	0.1	48.3	43	45	45	0
Conditioners	62.6	43.04	1.6	111.0	51	3.7	10.41	-1.5	64.3	55	57	16	41
Styling sprays	28.8	34.43	0.8	100.0	43	16.8	17.56	-1.1	54.4	43	43	28	15
Styling gels/lotions	57.5	35.59	0.3	100.0	22	2.9	6.49	-1.1	25.8	22	22	4	18
Styling mousses	27.9	37.17	1.1	100.0	12	3.5	4.85	-0.6	12.8	13	13	6	7
Glazing/bleaching	23.3	43.00	0.1	100.0	5	24.5	29.77	0.1	73.4	5	5	4	1
Wax	100.0	NA	NA	NA	1	1.5	NA	NA	NA	1	1	0	1
Total no.					179					182	186	103	83

[a] Although the BCOP was categorized as a non-irritant and the CAMVA RC_{50} score was 4.80 for this make-up remover, the CAMVA 95% confidence interval indicated a range of 2.8–8.1 (at least one egg in the CAMVA showed an irritation response). Therefore, applying our conservative approach, we categorized the product as a potential ocular irritant. Standard practice for the cosmetics industry is to use an ocular warning label for potential irritant products in the event of accidental eye exposure or consumer misuse of the product.

结果表明，采用 IATA 方案，分析回溯性表明，这种分类方案将消除对 319 种测试产品近 60%的测试需求，从而节省了产品测试的大量时间、资金和其他生物资源。相关的验证文章已于 2011 年发表在国际知名期刊，Toxicology in vitro。

Toxicology in Vitro 25 (2011) 563–572

Contents lists available at ScienceDirect

Toxicology in Vitro

journal homepage: www.elsevier.com/locate/toxinvit

Survey of ocular irritation predictive capacity using Chorioallantoic Membrane Vascular Assay (CAMVA) and Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) test historical data for 319 personal care products over fourteen years

D.A. Donahue [a,*], L.E. Kaufman [b], J. Avalos [a], F.A. Simion [a], D.R. Cerven [c]

[a] Kao Brands Company, 2535 Spring Grove Avenue, Cincinnati, OH, USA
[b] Scripterra Scientific, 123 Park Avenue, Wooster, OH, USA
[c] MB Research Laboratories, Inc., Spinnerstown, PA, USA

2、简化验证情况

1）、验证的组织

参与验证测试单位：广州市华代生物科技有限公司（L1）、拉芳家化股份有限公司（L2）、广东三好科技有限公司（L3）；由上海交通大学医学院转化毒理学团队组织验证，技术支持单位为雅诗兰黛亚太研发中心和广州华代生物科技有限公司。鸡胚来源均要求满足实验动物生产许可证的 SPF 白莱杭鸡来源，牛角膜来源均要求符合国家法规要求的地方持证屠宰场。验证核查人员：由上海市毒理学会委托具有 CNAS 认可资质的评审员 2 人担任。

2）、验证实施

2020 年 12 月-2021 年 5 月，进行实验测试部分

2021 年 3-5 月，数据分析

2021 年 6-8 月，完善标准文本，完成编制说明

3、参考物质选择

OECDTG437 方法和 EURL-ECVAM 中的 CAMVA 方法在参与验证实验室已实施多年，其中使用最久的华代公司使用该指南及测试方法已超过 9 年，其他实验室也是大于 1 年的使用历史。针对本项目，选择了简化版验证。项目基于 OECD TG 437 和 CAMVA 方法，选取 5 个化妆品配方，进行编码分发至参与实验测试单位。对每个选取化妆品配方分别在两个实验室间进行测试。每个参与测试实验的实验室需测试 1-4 个化学物（2 轮，眼刺激性和/或眼腐蚀性）。每个参与实验室的测试结果进行实验室间的比对分析，以确定团体标准的建立。

类别	**CAS#**	**化学品名**	**物理性质**	**BCOP 参与实验室及编码**	**CAMVA 参与实验室及编码**
无刺激	50-33-9	保泰松	固体	L1（061） L2（068）	L1（061） L2（068）
轻刺激性	6484-52-2	硝酸盐	固体	L1（063） L2（057 ）	L1（063） L2（057）
刺激性	55-56-1	氯已定	固体	L1（116） L3（289）	L1（116） L3（289）
轻刺激性	609-14-3	乙酰乙酸乙酯 Cat 2	液体	L1（201） L2（032）	L1（201） L3（032）

4、验证结果分析

4.1 阴性对照和阳性对照

眼刺激性测试（OECD TG437）和腐蚀性测试对照组数据分如下图：

TG437 标准所有批次实验的阴性对照组体外刺激性评分 IVIS 值均符合 OECD TG437 标准，所有批次实验的阳性对照组体外刺激性评分 IVIS 均符合 OECD TG437 标准。CAMVA 测试中所有批次实验的阴性对照组 RC50 均符合>100%要求，所有批次实验的阳性对照组均符合 10 个异常鸡胚要求。

	BCOP 测试批次对照组结果		CAMVA 测试批次对照组结果	
No.	PC	NC	PC（响应）	NC（不响应）

1	26.1578	-0.0335	10	10
2	26.1578	-0.0335	10	10
3	26.0309	0.3612	10	10
4	35.9012	-0.0539	10	10
5	39.6212	0.0479	10	10

4.2　整合测试结果

两种整合策略（自下而上，自上而下）均获得正确分类，且分类相同，不受所选用的测试策略顺序的局限。

	自下而上策略	自上而下策略	
	预测分类	预测分类	UN　GHS　分类
50-33-9	NC	NC	NC
6484-52-2	Cat　2	Cat　2	Cat　2
55-56-1	Cat　1	Cat　1	Cat　1
609-14-3	Cat　2	Cat　2	Cat　2

4.3 验证结论

本次验证基于眼刺激的整合策略，选择 OED437 和 CAMVA 作为组合中的标准方法，结果表明组合这两修文法可以用于自下而上（bottom-up）和自上而下（top-down）两种整合测试策略；组合方法在不同实验室间重复性良好；两种整合策略下，化学品均能获得正确分类，且分类相同，不受所选用的测试策略顺序的局限；该研究成功建立体外眼刺激性和腐蚀性测试整合策略的团体标准，为替代方法整合策略的推广奠定了坚实的科学基础

五、预期经济效果

1、推动化妆品行业替代方法的实施

动物实验替代方法起源于 1959 年罗素和伯齐倡导的“仁慈试验技术原理”，经过 60 年的发展，在国际上科学界、监管机构和验证机构的共同推动下，体外方法已广泛应用于监管科学、常规检测和科研服务。2009 年之后，从欧盟开始，世界上超过 50 个国家的化妆品法规禁止使用动物实验，转而使用替代方法。而我国的替代方法的使用不超过 20 年的历史，许多标准化替代方法没有被系统引进，更谈不上对其开发和验证过程的熟悉，迫切需要对于这些方法的使用提供指导文件。目前动物试验替代方法的研发和转化应用面临解决四个重要问题：一是单一方法的局限性，二是复杂毒理学终点替代方法开发的问题，三是标准化方法转化应用中的质量控制和优化的问题，四是新技术和方法的验证问题。本标准针对第一个问题，以化学品/化妆品眼刺激性和腐蚀性的替代方法组合测试为目标，建立毒性预测的整合方案。

2、推动组合替代方法的实施

目前，被我国行业主管机构接受，以及行业使用的替代方法尽管还不是很多，但已有不少方法在行业内使用，甚至出现了随意组合的现象。即对组合中单一方法的验证和组合方法的验证缺少必要的共识和案例。本指南的制定有助于推动替代方法组合过程中提高预测准确性和成本效益，以及推动组合方法的规范化验证。

六、采标程度，国内外同类标准水平对比情况

测试和评估的整合方法(integrated assessment and testing approaches, IATA)是一个根据多种来源的信息用于化学品危害识别、危害特征描述和安全性评估的方法。一个 IATA 整合并权重了所有相关的现有的证据，并在有需要时指导产生目标性的新数据，以指导关于潜在危害和风险的法规决策制定。IATA 方案中，来自不同的信息源数据，如理化特征、计算机模型、分类方法和交叉参照方法、体外方法、体内试验和人的数据，进行评估和整合以得出关于化学品危害和风险的结论。

IATA 的目的是评估来自于化学品暴露的人类健康和环境的风险，IATA 是一个过程，运用全面的证据权重的方法，用以权衡和集成可以用到的化学品危害和暴露的信息和经验性数据。根据评估问题（急性刺激性还是慢性经口毒性）和保护目标（健康或环境），IATA 的构建模块(组件)可以组装成不同的方式，可以包括一系列不同的方法和信息来源。IATA 可以使用毒性效力学（toxicodynamic, TD)和毒代动力学(toxicokinetic，TK)信息。IATA 中 TD 的信息可以来源于有害结局通路(AOP)，是指导致有害效应的生物学事件的结构化表示，并提供关于分子起始事件、关键事件和关键事件关系的机制性的信息。

表 2 OECD 发布的 IATA 文件

序号	OECD GD 编号	内容	发布时间
1	OECD GD 203	眼腐蚀性和刺激性的 IAT 的导则文件 Guidance Document on an Integrated Approach on Testing and Assessment (IATA) for Skin Corrosion and Irritation.	2014
2	250	来自IATA案例研究的报告--分类法作为 IAT的组成部分Report on Considerations from Case Studies on Integrated Approaches for Testing and Assessment (IATA) - First Review Cycle (2015) : Case Studies on Grouping Methods as a Part of IATA	2017

3	263	严重眼损伤和眼刺激性的IATA导则文件（第二版）Second Edition - Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation	2019
4	260	使用AOP开发IATA的导则文件Guidance Document for the Use of Adverse Outcome Pathways in Developing Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)	
5	256	报告定义性方法和个性化信息用于眼致敏的IATA导则文件Guidance Document on the Reporting of Defined Approaches and Individual Information Sources to be Used within Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Skin Sensitisation	2017

本指南主要依据化妆品安全性最为关注的眼刺激性问题，以OECD比较成熟的和全球广泛使用的BCOP定义性方法为基础，再组合了被国内大多数化妆品企业使用的CAMVA方法。以OECD关于眼刺激性的IATA文件263号为依据，以国内可以实现与同际同步的BCOP和CAMVA方法为组件，提供满足化妆品和化学品使用的IATA指南。目前国内尚无类似指南标准，本标准发布将填补这一领域的空白。

七、重大分歧意见的自理和其他需要说明的事项

2020 年申请标准立项时得到学会标准化专家委员会的投票一致同意。标准编制过程和验证过程中得到参与实验验证单位和参与标准编制单位的积极响应。主要问题如下：

OECD 263 号文件指出，当现有数据存在不确定时，可以选择定义性方法建立组合。因此，基于眼模型的方法并不是唯一的补充数据缺口的方法，其缺点还表现在成本较高。现实测试中可能存在其他的组合方式，比如基于 496 与 BCOP 的组合，460 与 491 的组合等。因此，对于本标准所界定的适用范围应在标准中给予较明确的说明。鉴于体内眼刺激涉及角膜、结膜和虹膜三个具体部位的变化，组合方案中应强调如何避免替代方法所适用范围的局限，避免同一层次和预测能力的方法被不适当地组合使用。

替代动物实验的非常重要的原因是基于动物福利和 3R 原则的考虑，基于眼刺激的组合方法，或者基于化学反应的组合方法（如 496）可能是动物福利程度较高的方法，而基于 438、437 作为组合的方法可能涉及农场动物的取材，动物福利程度较差。建议标准中补充关于 3R 有益性的描述。